

УДК 543.422.3;543.645.9

Ж. О. Кормош – кандидат хімічних наук, професор, завідувач кафедри аналітичної хімії Волинського національного університету імені Лесі Українки;
І. П. Гунька – кандидат хімічних наук, старший викладач кафедри аналітичної хімії Волинського національного університету імені Лесі Українки;
О. Ю. Матвійчук – студент хімічного факультету Волинського національного університету імені Лесі Українки;
Я. Р. Базель – професор, доктор хімічних наук, завідувач кафедри аналітичної хімії Університету П. Й. Шафарика (м. Кошице, Словаччина);
А. В. Нікітіна – студентка хімічного факультету Волинського національного університету імені Лесі Українки

Потенціометричне визначення кетопрофену за допомогою ПВХ-сенсора на основі його іонного асоціату з кристалічним фіолетовим

*Роботу виконано на кафедрі аналітичної хімії
ВНУ ім. Лесі Українки*

Розроблений кетопрофен-селективний електрод із пластифікованою полівінілхлоридною мембраною, що містить як електродактивну речовину (ЕАР) іонний асоціат (ІА) кетопрофену (КТ) з кристалічним фіолетовим (КФ). Інтервал лінійності електродної функції розробленого електроду міститься в межах $1 \cdot 10^{-5}$ – $1 \cdot 10^{-2}$ моль/л кетопрофену, межа виявлення становить $5 \cdot 10^{-2}$ моль/л, крутизна 35,0–56,0 мВ/рС. Робочий інтервал рН електрода 7–11.

Ключові слова: потенціометрія, іоноселективні електроди, іонні асоціати, кетопрофен.

Кормош Ж. О., Гунька І. П., Матвійчук О. Ю., Базель Я. Р., Нікітіна А. В. Потенциометричне определение кетопрофена с помощью ПВХ-сенсора на основе его ионного ассоциата с кристаллическим фиолетовым. Разработан кетопрофен-селективный электрод с пластифицированной поливинилхлоридной мембраной, которая содержит как электродактивное вещество (ЕАР) ионный ассоциат (ИА) кетопрофена (КТ) с кристаллическим фиолетовым (КФ). Интервал линейности электродной функции разработанного электрода находится в пределах $1 \cdot 10^{-5}$ – $1 \cdot 10^{-2}$ моль/л кетопрофена, предел определения составляет $5 \cdot 10^{-2}$ моль/л, крутизна 35,0–56,0 мВ/рС. Рабочий интервал рН электрода 7–11.

Ключевые слова: потенциометрия, ионоселективные электроды, ионный ассоциат, кетопрофен.

Kormosh Zh. O., Hunka I. P., Matviychuk O. Yu., Bazel Ya. R., Nikitina A. V. Potentiometric Determination of Ketoprofen at a New PVC Electrode Modified with Ionic Associate of Kristal Violet. A ketoprofen-selective electrode with the plasticized polyvinylchloride membrane has been designed. The electrode contains an ionic associate of ketoprofen with a Kristal Violet and responds to ketoprofen in a linear range of $1 \cdot 10^{-5}$ – $1 \cdot 10^{-2}$ mol/l with a slope of 35–56 mV/pC. These electrode responds with sensitivity at pH 7–11.

Key words: potentiometry, ion selective electrodes, ion associates, ketoprofen.

Постановка наукової проблеми та її значення. Здійснення строгого контролю якості препаратів і широке використання в медичній практиці нестероїдних протизапальних препаратів (НПЗП), зокрема кетопрофену, зумовлює необхідність розробки простих, експресних, економних методик їх визначення в дозованих лікарських формах.

Аналіз останніх досліджень із цієї проблеми. Кетопрофен ($C_{16}H_{14}O_3$) є похідним пропіонової кислоти, належить до групи профенів. Завдяки своїм фармакологічним властивостям він широко використовується у сучасній медичній практиці при лікуванні хворих із запальними процесами. Для кількісного визначення вмісту кетопрофену в різних об'єктах пропонуються різні аналітичні методи.

Відомі у літературі спектрофотометричні методи визначення НПЗП ґрунтуються на окисно-відновних реакціях, продуктами реакцій яких є сполуки, що здатні утворювати забарвлені комплекси. Уперше фотометричне визначення кетопрофену здійснено у 1989 році [1]. Для визначення кетопрофену спектрофотометричним методом використано *p*- та *o*-хлораніліни [2]. Сигнал реєструють при довжині хвилі $\lambda = 530$ нм. Недоліком методу є невисока чутливість. Іншими авторами запропо-

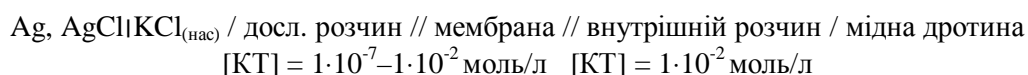
новано використовувати 2,2'-дифеніл-1-пікрилгідазин для визначення кетопрофену в дозованих лікарських формах [3]. Визначення слід проводити при $\lambda = 520$ нм, чутливість складає <5 мкг/мл.

Визначення кетопрофену у фармпрепаратах проводять інжекційним методом з УФ-детектуванням сигналу при 260 нм. Лінійність калібрувального графіка лежить у межах $1,6 \cdot 10^{-6}$ – $1,7 \cdot 10^{-4}$ моль/л кетопрофену, межа визначення становить $1,7 \cdot 10^{-6}$ моль/л [4].

Найчастіше визначення кетопрофену у фармацевтичних препаратах проводять хроматографічними методами [5–13]. Деякі із запропонованих авторами методик успішно використано для визначення кетопрофену у зразках молока [7], крові [13], сечі [14] та м'яса [15]. Крім таких методів, визначати кетопрофен можна кондуктометрично [16], полярографічно [17], вольт-амперометрично [18], а також тербійчутливою люмінесценцією [19].

Експериментальна частина. Для виконання експерименту готували вихідний стандартний розчин кетопрофену з концентрацією $1 \cdot 10^{-2}$ моль/л. Робочі розчини кетопрофену $1 \cdot 10^{-3}$ – $1 \cdot 10^{-7}$ моль/л готували послідовним розведенням вихідного розчину у дистильованій воді в день експерименту. Іонну силу підтримували 0,1 н КСІ. Кислотність середовища регулювали за допомогою універсального буферного розчину [20] із відповідним значенням рН, яке контролювали потенціометрично на іонімірі зі скляним електродом.

Потенціометричне вимірювання проводили на іонімірі И-160.М (похибка вимірювання $\pm 1,0$ мВ); як електрод порівняння використовували хлорсрібний електрод ЭВЛ-1М 3 при кімнатній температурі $25,0 \pm 0,1$ °С. При вимірюваннях користувалися класичною схемою будови електрохімічного кола:



Для моделювання складу мембрани використовували ПВХ, досліджено мембрани, пластифіковані дибутилфталатом (ДФБ), диоктилфталатом (ДФО), дибутилсебаценатом (ДБС), трикрезилфосфатом (ТКФ), динонілфталатом (ДНФ).

Як внутрішній розчин порівняння використано 0,01 М розчин КТ.

ІА кетопрофену з кристалічним фіолетовим синтезовано за достатньо простою методикою. Спочатку приготували 10^{-2} М розчини кетопрофену та кристалічного фіолетового. По краплях, при постійному перемішуванні до барвника додали розчин КТ і залишили при кімнатній температурі на 2 год для відстоювання. Осад, що випав, профільтрували та декілька раз промили холодною дистильованою водою, після чого сушили при кімнатній температурі на повітрі протягом 48 год.

Пластифіковані полівінілхлоридні мембрани готували згідно з рекомендаціями [21] так. Зважували 0,2 г ПВХ, відповідну кількість виділеного ІА, потім суміш ретельно перемішували для гомогенізації. Після цього вводили 0,1 мл пластифікатора (ДФБ, ДФО, ДБС, ТКФ, ДНФ), 0,5 мл розчинника пластифікатора (циклогексанону або тетрагідрофурану). Отриманий розчин переносили в форму (кільце діаметром 1,7 см), попередньо відшліфоване і приклеєне до скляної підложки і сушили на повітрі протягом 1–2 діб. Ступінь гомогенізації мембран оцінювали за допомогою мікрофотографій, отриманих на металографічному мікроскопі "LEICAVMHTAUTO".

Виклад основного матеріалу й обґрунтування отриманих результатів досліджень. Ключовим чинником, що визначає можливість застосування ІСЕ, чутливих до аніонів кетопрофену, як і інших речовин в аналізі, є селективність до визначуваного іона щодо інших інгредієнтів лікарської форми. Тому як науковий, так і практичний інтерес зумовлює обґрунтування шляхів управління селективністю за допомогою варіювання складу мембрани.

Пластифікована мембрана являє собою, як мінімум, чотирикомпонентну систему, в склад якої входить: електроактивна речовина (ЕАР), полімерна матриця, розчинник ЕАР, який водночас є і пластифікатором, та розчинник полімеру. Вивчення впливу кожного з компонентів цієї системи, а також властивостей розчинів, які аналізуються, має важливе значення, оскільки саме вони вважаються домінуючими в ряді досліджуваних факторів. Робота запропонованих сенсорів на кетопрофен оцінювалася з точки зору впливу на них складу мембрани (вмісту ЕАР та вмісту пластифікатора), рН середовища, природи розчинника-пластифікатора, часу відклику, часу життя тощо.

Для визначення впливу пластифікатора на основні електродні характеристики ІСЕ, виготовлено однотипні мембрани, пластифіковані ДФБ, ДФО, ДБС, ДНФ, ТКФ. При цьому вміст пластифікатора

складав 65 % від загальної маси компонентів мембрани, а іонна сила розчинів підтримувалася 0,1 моль/л розчином KCl при pH 8–9. На рис. 1 подано результати графічної залежності впливу природи пластифікатора на відклик кетопрофен-чутливого електрода.

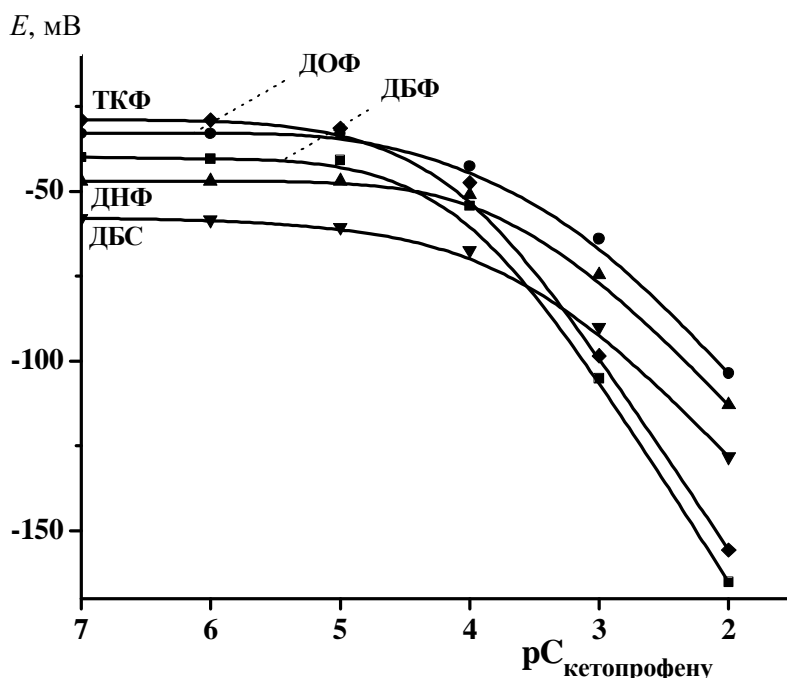


Рис. 1. Вплив природи пластифікатора на відклик кетопрофен-селективного електрода

У табл. 1 зведено дані основних електродних характеристик ІСЕ, чутливих до аніона кетопрофену. Встановлено, що найкращі електродні характеристики щодо крутизни електродної функції для визначення кетопрофену має мембрана, пластифікована ДБФ та ТКФ, причому, числове значення електродної функції для неї 53–56 мВ/рС. Приблизно рівні, проте гірші щодо ТКФ властивості мають мембрани пластифіковані ДОФ, ДНФ, ДБС, для яких крутизна електродної функції досягає близько 35 мВ/рС. Що ж стосується інших електродних характеристик, то чутливість визначення кетопрофен-іонів для мембран незалежно від пластифікатора лежить у межах 10^{-5} – 10^{-4} моль/л.

Таблиця 1

Вплив природи пластифікатора на основні електрохімічні характеристики кетопрофен-селективних електродів на основі ІА з КФ

Пластифікатор	Крутизна, мВ/рС	Лінійність, моль/л	Межа виявлення, моль/л
ДБФ	53 ± 1	$1 \cdot 10^{-2}$ – $1 \cdot 10^{-4}$	$4,0 \cdot 10^{-5}$
ДНФ	38 ± 1	$1 \cdot 10^{-2}$ – $5 \cdot 10^{-5}$	$3,2 \cdot 10^{-5}$
ДОФ	36 ± 1	$1 \cdot 10^{-2}$ – $5 \cdot 10^{-5}$	$4,0 \cdot 10^{-5}$
ДБС	35 ± 2	$1 \cdot 10^{-2}$ – $5 \cdot 10^{-5}$	$3,2 \cdot 10^{-5}$
ТКФ	56 ± 2	$1 \cdot 10^{-2}$ – $1 \cdot 10^{-4}$	$5,0 \cdot 10^{-5}$

Також встановлено, що виготовлені мембрани зберігають свої основні електродні характеристики з часом (через 3 місяці після виготовлення), що визначає час життя таких сенсорів і дає можливість їх ефективного використання протягом тривалого часу. Із вмістом пластифікатора пов'язується й час життя електрода, який визначається частотою його використання. Електроди з меншим вмістом пластифікатора працюють дещо менший час, ніж електроди з більшим його вмістом. Із часом вміст розчинника в мембрані зменшується і це призводить до порушення їх структури, втрати еластичності та до обмеження часу життя електродів.

Досліджено вплив кислотності середовища на основні електродні характеристики ІСЕ на основі ІА з кристалічним фіолетовим при постійних концентраціях кетопрофену $1,0 \cdot 10^{-2}$ моль/л і $15,0 \cdot 10^{-3}$ моль/л (рис. 2).

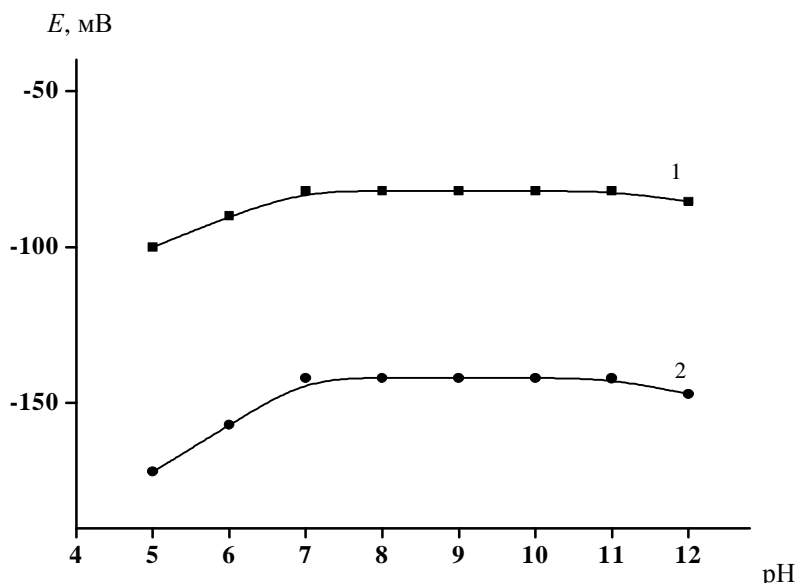


Рис. 2. Вплив pH на електродний потенціал мембран: 1 – $pC_{(Ket^-)}$; 2 – $pC_{(Ket^-)}$ 3

Установлено, що іоноселективні електроди на основі іонних асоціатів кетопрофену з кристалічним фіолетовим працюють у досить широких межах кислотності середовища. Нахил калібрувальних кривих зберігає постійне значення в інтервалі pH 7–11, однак при його переході до кислої або сильно-лужної області спостерігається стрибок потенціалу. Можливе пояснення цьому – різне концентраційне співвідношення молекулярної та іонної форм цих речовин при різному значенні pH водного розчину.

Досліджено вплив концентрації внутрішнього розчину порівняння на електродні характеристики ІСЕ. При цьому використовували $5 \cdot 10^{-3}$, $1 \cdot 10^{-2}$ і $5 \cdot 10^{-2}$ моль/л розчини кетопрофену. Установлено, що концентрація внутрішнього розчину порівняння не впливає на динамічний інтервал, нахил, час відклику та інші електродні характеристики досліджуваної системи.

Не менш важливим фактором, що впливає на електродні характеристики електрода, є селективність, яка характеризує можливість визначення необхідного компонента в присутності інших. Для мембран на основі ІА з кристалічним фіолетовим коефіцієнти селективності визначали методом окремих розчинів. Результати впливу присутності різних іонів та речовин на електродні характеристики кетопрофен-селективного електрода подано на рис. 3.

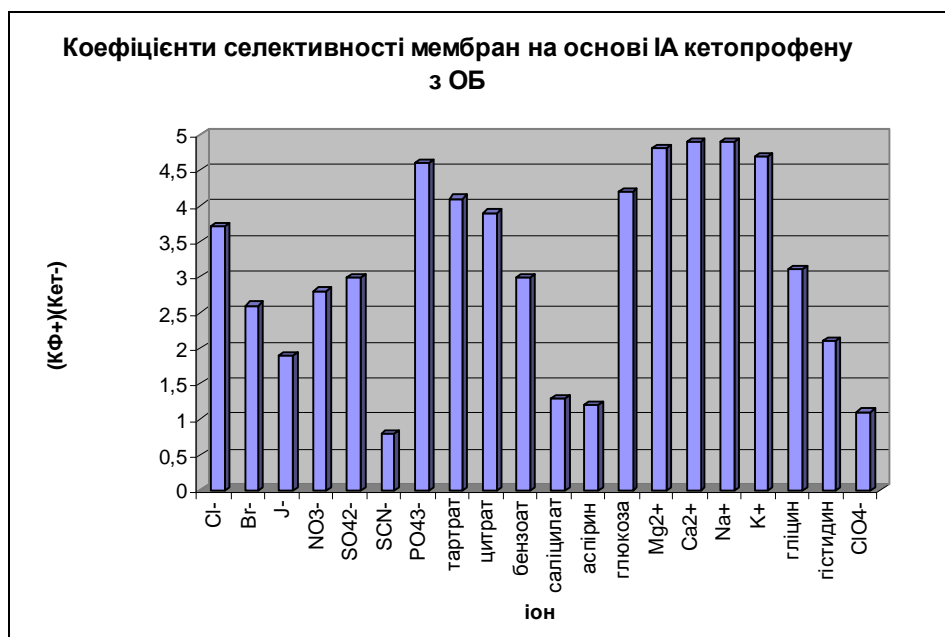


Рис. 3. Селективність розробленого кетопрофен-чутливого сенсора

Установлено, що визначенню кетопрофену не заважають Cl^- , NO_3^- , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} , Na^+ , K^+ , тартат-, цитрат-, бензоат-, саліцилат-, фталат-іони, глюкоза, оксалат, гліцин, гістидин, аспірин, а також 20-кратні кількості іонів Br^- , I^- , SCN^- , ClO_4^- .

Щоб оцінити здатність потенціометричного сенсору для визначення кетопрофену в роботі з реальними зразками, визначали вміст кетопрофену у фармацевтичних препаратах, а саме Фастум гелі (табл. 2).

Таблиця 2

Результати визначення кетопрофену у Фастум® гелі за допомогою ІСЕ на основі ІА
($n = 5$; $P = 0,95$)

Склад гелю	Наважка гелю, мг	Кетопрофен, мг		RSD, %
		розрахований вміст	знайдено	
Кетопрофен, карбомер 940, масла лавандове та нерола, ніпагін, 96 % $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, трометамол, H_2O	100	25	$24,4 \pm 1,2$	3,9
	200	50	$49,6 \pm 1,4$	2,3
	300	75	$74,6 \pm 1,9$	2,0

Методика визначення. Для визначення вмісту кетопрофену у Фастум гелі наважку його препарату зважують, розчиняють у 25 мл дистильованої води та фільтрують. Вносять 5 мл буферного розчину рН 8, 5 мл 1,0 н KCl . Об'єм доводять до мітки у колбі на 50 мл. У розчин, який аналізують на вміст кетопрофену, занурюють мембранний електрод та хлорсрібний електрод порівняння. Вимірюють потенціал індикаторного мембранного електрода. Вміст кетопрофену знаходять методом калібрувального графіка, побудованого за аналогічних умов. Результати визначення кетопрофену за допомогою мембранного кетопрофен-чутливого сенсора подано у табл. 2.

Результати, отримані за допомогою розробленого сенсора, добре узгоджуються з даними, які декларує специфікація лікарської форми, що засвідчує ефективність використання розробленого ІСЕ для визначення кетопрофену.

У табл. 3 подано порівняльну характеристику хіміко-аналітичних властивостей ІСЕ на основі ІА метилтриоктил-амоній-3-бензол- α -метилбензен-ацетату [22] із запропонованим нами мембранним електродом на основі ІА кетопрофену із основним барвником кристалічним фіолетовим для визначення кетопрофену.

Таблиця 3

Порівняння електродних характеристик ІСЕ для визначення кетопрофену

Хіміко-аналітичні характеристики роботи ІСЕ	ІСЕ на основі ІА метилтриоктил-амоній-3-бензол- α -етилбензенацетату [22]	Сенсор на основі ІА (KF^+)(Кет $^-$)
рН розчину роботи сенсора	5,0–8,5	7–11
Крутизна електродної функції, мВ/рС	$-57,6 \pm 1,5$	$-58,0 \pm 1,0$
Лінійність, моль/л	$1,0 \cdot 10^{-4} - 1,0 \cdot 10^{-1}$	$1,0 \cdot 10^{-4} - 1,0 \cdot 10^{-1}$
Чутливість, моль/л	$5,8 \cdot 10^{-5}$	$5,0 \cdot 10^{-5}$
Час відклику, с	25	2–3
Час життя електрода, тижні	8	16

Розроблений сенсор на основі ІА кетопрофену та кристалічного фіолетового має переваги над ІСЕ на основі ІА метилтриоктил-амоній-3-бензол- α -метилбензен-ацетату, а саме: у нього швидший час установлення потенціалу, довший час життя сенсора, а також він дає можливість проводити визначення кетопрофену у більш широкому інтервалі кислотності середовища. Інші електродні характеристики сенсорів (крутизна електродної функції, лінійність та межа виявлення) для визначення кетопрофену є приблизно рівними.

Висновки. Установлено, що синтезований ІА за участю кристалічного фіолетового та кетопрофену може бути використаний як ЕАР для кетопрофен-селективного електрода. Досліджено умови роботи запропонованого сенсора на основі ІА залежно від рН розчину, природи пластифікатора, концентрації внутрішнього розчину, концентрації кетопрофену, часу відклику, часу життя електрода

та ін. Вивчено питання селективності мембранного сенсора. На основі вивченої системи розроблено нову чутливу та селективну, просту у виконанні методику потенціометричного визначення кетопрофену, яка апробована при його визначенні у Фастум гелі.

Ірина Гунька вдячна Національній стипендіальній програмі Словацької Республіки (SAIA) за фінансову підтримку під час стажування на кафедрі аналітичної хімії університету П. Й. Шафарика в Кошиці, Словаччина.

Робота частково підтримана проектом № М/82-2008 Міністерства освіти і науки України.

Література

1. Sastry C. S. P. Extractive spectrophotometric determination of some anti-inflammatory agents with methylene violet / C. S. P. Sastry, A. S. R. Prasad Tipirneni, M. V. Suryanarayana // *Analyst*. – 1989. – Vol. 114. – P. 513–515.
2. Spectrophotometric determination of ketoprofen in pharmaceutical preparations by means of charge transfer complex formation / M. El-Sadek, S. El-Adl, M. Abou-Kull, S. M. Sakr // *Talanta*. – 1993. – Vol. 40, № 4. – P. 585–588.
3. The polarographic behaviour of ketoprofen and assay of its capsules using spectrophotometric and voltammetric methods / K. M. Emara, M. M. Alia, Nagwa Abo-El Maali // *Talanta*. – 1994. – Vol. 41, № 5. – P. 639–645.
4. Quantitative determination of ketoprofen in gels and ampules by using flow-injection UV spectrophotometry and HPLC / C. Özlü, H. Basan, E. Satana, N. Ertas, G. Goger Nilgün // *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*. – 2005. – Vol. 39, № 3–4. – P. 606–611.
5. Simultaneous HPLC determination of ketoprofen and its degradation products in the presence of preservatives in pharmaceuticals / J. Dvorak, R. Hajkova, L. Matysova, L. Novakova, M. A. Koupparis, P. Solich // *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*. – 2004. – Vol. 36, № 3. – P. 625–629.
6. Determination of flunixin and ketoprofen in milk by liquid chromatography-tandem mass spectrometry / E. Daeseleire, L. Mortier, H. De Ruyck, N. Geerts // *Analytica chimica acta*. – 2003. – Vol. 488, № 1. – P. 25–34.
7. Pietta P. High-performance liquid chromatographic determination of ketoprofen degradation products / P. Pietta, E. Manera, P. Ceva // *Journal of chromatography*. – 1987. – Vol. 390, № 2. – P. 454–457.
8. Kocyigit-Kaymakcoglu B. Determination and validation of ketoprofen, pantoprazole and valsartan together in human plasma by high performance liquid chromatography / B. Kocyigit-Kaymakcoglu, S. Ünsalan, S. Rollas // *Pharmazie*. – 2006. – Vol. 61, № 7. – P. 586–589.
9. El-Saharty Y. S. Simultaneous determination of hyoscine butylbromide and ketoprofen in pharmaceutical preparations by spectrophotometric and liquid chromatographic methods / Y. S. El-Saharty, F. H. Metwally, M. Refaat [et al.] // *J. AOAC Intern.* – 2007. – Vol. 90, № 1. – P. 102–112.
10. Simultaneous determination of chlorzoxazone and ketoprofen in binary mixtures and in ternary mixtures containing the chlorzoxazone degradation product by reversed-phase liquid chromatography / S. Talaat Hassib, A. Mohammad, A. El-Zaher Asmaa, E. El-Kady // *Journal of AOAC International*. – 2007. – Vol. 90, № 3. – P. 693–699.
11. Hormazabal V. Simultaneous determination of chloramphenicol and ketoprofen in meat and milk and chloramphenicol in EGG, honey, and urine using liquid chromatography-mass spectrometry / V. Hormazabal, M. Yndestad // *Journal of liquid chromatography & related technologies*. – 2001. – Vol. 24, № 16. – P. 2477–2486.
12. Parimoo P. Determination of propyphenazone and ketoprofen in drug formulations by high performance liquid chromatography / P. Parimoo, A. Bharathi, B. V. Atul // *Indian J. Pharm. Sci.* – 1996. – Vol. 58, № 5. – P. 205–207.
13. Fan Y. In-tube solid phase micro extraction using a α -cyclodextrin coated capillary coupled to high performance liquid chromatography for determination of non-steroidal anti-inflammatory drugs in urine samples / Y. Fan, Yu-Qi. Feng, Da Shi-Lu Wang [et al.] // *Talanta*. – 2005. – Vol. 65, № 1. – P. 111–117.
14. Panus P. C. Tissue extraction and high-performance liquid chromatographic determination of ketoprofen enantiomers / P. C. Panus, B. Tober-Meyer, K. E. Ferslew // *Journal of chromatography. B. Biomedical sciences and applications*. – 1998. – Vol. 705, № 2. – P. 295–302.
15. Rapid online-SPE-MS/MS method for ketoprofen determination in dermal interstitial fluid samples from rats obtained by microdialysis or open-flow microperfusion / E. P. Karin, C. Magnes, M. Bodenz, T. Pieber, M. Sinner Frank // *Journal of chromatography*. – 2007. – Vol. 850, № 1–2. – P. 432–439.
16. Nobile L. Conductimetric determination of ketoprofen in pharmaceutical formulations / L. Nobile, M. A. Raggi // *Bollettino chimico-farmaceutico*. – 1992. – Vol. 131, № 9. – P. 344–346.

17. Amankwa L. Electrochemical reduction of ketoprofen and its determination in pharmaceutical dosage forms by differential-pulse polarography / L. Amankwa, L. G. Chatten // *Analyst.* – 1984. – Vol. 109, № 1. – P. 57–60.
18. Ghoneim M. M. Voltammetric studies and assay of the antiinflammatory drug ketoprofen in pharmaceutical formulation and human plasma at a mercury electrode / M. M. Ghoneim, A. Tawfik // *Can. J. Chem.* – 2003. – Vol. 81, № 8. – P. 889–896.
19. Terbium Sensitized Luminescence for the Determination of Ketoprofen in Pharmaceutical Formulations / S. M. Al-Kindly, Z. Al-Harasi, F. E. Suliman, A. Al-Hamadi, A. Pillay // *J. Fluoresc.* – 2009. – Vol. 19, № 2. – P. 249–255.
20. Лурье Ю. Ю. Справочник по аналитической химии. V изд. : пер. и доп. / Ю. Ю. Лурье. – М. : Химия, 1979. – 480 с.
21. Камман К. Работа с ионоселективными электродами / К. Камман ; пер. с нем. – М. : Мир, 1980. – 283 с.
22. Lenik J. Ketoprofen ion-selective electrode and its application to pharmaceutical analysis / J. Lenik, C. Wardak, B. Marczevska // *Acta Poloniae Pharmaceutica. Drug Research.* – 2006. – Vol. 63, № 4. – P. 239–244.

Адреса для листування:

43021, Луцьк, просп. Волі, 13.

Тел. 4-84-27.

Ел. адреса: kormosh@univer.lutsk.ua

Статтю подано до редколегії

16.12.2009 р.